KARYA TULIS ILMIAH

KOMBINASI ‘HERBAL HYBRID’ DENGAN ANTIBIOTIK SEBAGAI PENGHAMBAT *EFFLUX PUMP Mycobacterium tuberkulosis* DAN *IMMUNOMODULATOR*: MENUJU INDONESIA BEBAS TUBERKULOSIS (TB) 2050

Disusun oleh:

Wahyuningyan Arini

145090101111014

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2017

PENGESAHAN KARYA TULIS ILMIAH

1	Judul Kegiatan	:Kombinasi 'Herbal Hybrid' dengan Antibiotik sebagai Penghambat *Efflux Pump Mycobacterium tuberkulosis* dan *Immunomodulator*: Menuju Indonesia Bebas Tuberkulosis (TB) 2050
2	Bidang	:Bahan Baku Obat
3	Biodata Penulis	
	a. Nama Lengkap	:Wahyuningyan Arini
	b. NIM	:145090101111014
	c. Jurusan	:Biologi
	d. Universitas	:Universitas Brawijaya
	e. Alamat Rumah dan No Tel./HP	:Jalan Kertoleksono no. 51, Malang / 085236376849
	f. Alamat emai	:wahyuningyanarini@gmail.com
4	Dosen pendamping	
	a. Nama Lengkap dan Gelar	: Dr. Suharjono, MS.
	b. NIDN	:0023026307
	c. Alamat Rumah dan No. Tel/HP	:Puri Cempaka Putih 1 blok AB-1, Malang / 08155558224

Malang, 2 Mei 2017

Menyetujui,
Dosen Pendamping,

Dr. Suharjono, MS
NIDN. 0023026307

Penulis,

Wahyuningyan Arini
NIM. 145090101111014

Wakil Rektor Bidang
Kemahasiswaan,

Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS
NIP. 195502131984031001

PRAKATA

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat, hidayah serta kemudahan dalam menyelesaikan karya tulis ilmiah yang berjudul "Kombinasi 'Herbal Hybrid' dengan Antibiotik sebagai Penghambat *Efflux Pump Mycobacterium tuberkulosis* dan *Immunomodulator*: Menuju Indonesia Bebas Tuberkulosis (TB) 2050". Karya tulis ilmiah ini ditulis untuk memenuhi persyaratan Pemilihan Mahasiswa Berprestasi Nasional 2017. Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya disampaikan kepada pihak-pihak yang telah membimbing dan memberikan saran dan masukan dalam pembuatan karya tulis ilmiah ini:

1. Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia, penyelenggara Pemilihan Mahasiswa Berprestasi Nasional 2017,
2. Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS., wakil rektor bidang kemahasiswaan,
3. Darjito, S.Si, M.Si, wakil dekan bidang kemahasiswaan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya,
4. Dr. Suharjono, MS. sebagai dosen pendamping yang telah memberikan bimbingan dalam pembuatan karya tulis ini,
5. Tim juri Pemilihan Mahasiswa Berprestasi Universitas Brawijaya atas bimbingan dan pengarahan persiapan Pilmapres Nasional 2017,
6. Rodliyati Azrianingsih, S.Si, M. Si, Ph. D., ketua program studi S1 Biologi, tim jurusan, fakultas dan universitas yang turut membantu persiapan Pilmapres nasional 2017,
7. Keluarga dan teman-teman yang turut memberikan dukungan persiapan Pilmapres Nasional 2017.

Karya tulis ilmiah ini masih belum sempurna, oleh karena itu saran dan kritik yang membangun sangat diperlukan. Semoga karya tulis ilmiah ini dapat memberikan manfaat dan kontribusi yang besar bagi pembangunan bangsa Indonesia.

Malang, 2 Mei 2017

Penulis,

DAFTAR ISI

DAFTAR GAMBAR

DAFTAR LAMPIRAN

BAB I
PENDAHULUAN

Latar Belakang

Tuberkulosis (TB) menimbulkan masalah kesehatan masyarakat yang dapat menyebabkan kematian. Penyakit ini merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Mycobacterium tuberkulosis*. Penyakit TB dapat menyerang paru-paru yang menyebabkan kecacatan hingga kematian. Menurut *World Health Organization* (2016), angka kematian penduduk dunia akibat TB mencapai 1,4 juta jiwa dan terdapat sebanyak 6.800 kasus baru tiap tahun di Indonesia.

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 67 tahun 2016, penanganan TB di Indonesia dilaksanakan melalui pemberian obat anti tuberkulosis, vaksin kekebalan, obat pencegahan TB, alat kesehatan dan reagensia. Selama ini terapi TB secara medis menggunakan antibiotik seperti rifampisin, etambutol, dan isoniazid yang berfungsi untuk menghambat atau menghentikan perkembangbiakan bakteri penyebab TB dalam jangka waktu antara enam bulan hingga tiga tahun. Namun bakteri penyebab TB dapat mengalami resistensi terhadap antibiotik akibat pemakaian yang terlalu lama. Jangka waktu lama pengobatan TB tersebut juga belum menjamin 100% kesembuhan penderita TB (Wasnik dan Tumane, 2014).

Bakteri penyebab TB yaitu *Mycobacterium tuberkulosis* diketahui resisten terhadap antibiotik yang telah digunakan dalam terapi TB saat ini. Hal tersebut disebabkan karena antibiotik telah lama digunakan dan adanya mutasi bakteri *Mycobacterium tuberkulosis* sehingga timbul *Multi-Drug Resistant-Tuberculosis* (MDR-TB). Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* penyebab MDR-TB memiliki mekanisme *efflux pump* atau pompa pada struktur sel bakteri *Mycobacterium tuberkulosis* untuk mengeluarkan antibiotik sebelum merusak sel bakteri. Penghambatan mekanisme *efflux pump* bakteri *Mycobacterium tuberkulosis* harus dilakukan agar antibiotik dapat bekerja dengan baik (Szumowski dkk., 2013). Oleh karena itu, inovasi ‘Herbal Hybrid’ dari beberapa bioaktif tanaman lokal Indonesia

ini diusulkan sebagai pendamping antibiotik yang telah digunakan saat ini untuk terapi TB.

‘Herbal Hybrid’ yang diusulkan dalam karya tulis ilmiah ini adalah gabungan dari empat bahan aktif yaitu capsaicin, piperin, filantin dan terpenoid yang berasal dari tanaman lokal Indonesia. Keempat bioaktif tersebut akan bekerja secara sinergis dalam mengatasi penyakit TB, yaitu dengan menghambat *efflux pump* dan *immunomodulator*. *C*apsaicin menghambat interaksi p-glikoprotein bakteri dengan antibiotik dalam mekanisme *efflux pump* dan piperin dapat menghambat *efflux pump* protein transmembran Rv1258c (Kalia dkk., 2012). Selain itu, untuk meningkatkan kerja sistem imun pasien TB, dibutuhkan senyawa yang dapat berfungsi sebagai immunomodulator, yaitu filantin dan terpenoid (Putri dkk., 2017).

Indonesia sebagai negara dengan biodiversitas terbesar ke-2 di dunia memiliki bahan-bahan bioaktif potensial yang dapat digunakan sebagai ‘Herbal Hybrid’ mengatasi masalah TB tersebut. Senyawa capsaicin terkandung dalam cabai rawit (*Capsicum frutescens*) (Kalia dkk., 2012), piperin dalam lada hitam (*Piper nigrum*) (Sharma dkk., 2010), serta filantin dan terpenoid yang terkandung daun meniran (*Phyllanthus niruri*) yang banyak dan mudah tumbuh di Indonesia (Putri dkk., 2017). Oleh karena itu, inovasi yang diusulkan ini berbasis ‘Herbal Hybrid’ yang bekerja menghambat *efflux pump Mycobacterium tuberkulosis* agar dapat bersinergi dengan antibiotik yang telah dijual di pasaran sehingga dapat bekerja dengan lebih efektif dalam mendegradasi bakteri penyebab TB dan peningkatan kinerja sistem imun penderita yang diikuti masa penyembuhan yang lebih pendek.

Rumusan Masalah

Rumusan masalah berdasarkan latar belakang di atas yaitu:

a. Bagaimana efektivitas ‘Herbal Hybrid’ dalam bersinergi dengan antibiotik yang telah digunakan di pasaran sebagai penghambat *Efflux Pump Mycobacterium tuberkulosis* dan *immunomodulator*?
b. Bagaimana peranan ‘Herbal Hybrid’ dalam mewujudkan Indonesia bebas tuberkulosis 2050?

Tujuan

Tujuan karya tulis ilmiah ini yaitu:

a. Membuat inovasi ‘Herbal Hybrid’ yang efektif bersinergi dengan antibiotik telah digunakan di pasaran sebagai penghambat *efflux pump Mycobacterium tuberkulosis* dan *immunomodulator* penderita,
b. Memperkuat peranan ‘Herbal Hybrid’ dalam mewujudkan Indonesia bebas tuberkulosis 2050.

Manfaat

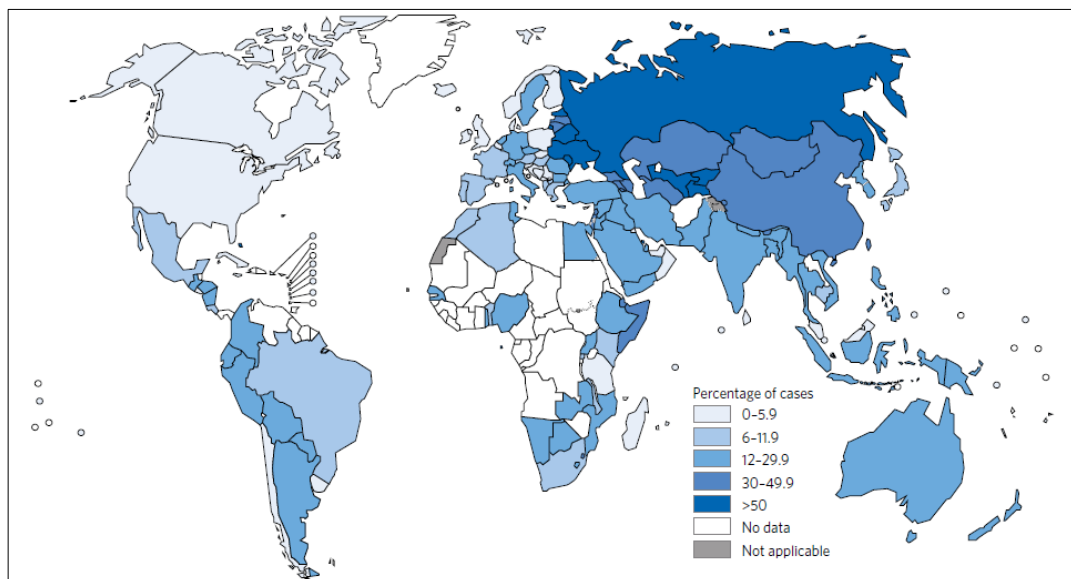
Manfaat karya tulis ini yaitu mendapatkan kandidat ‘Herbal Hybrid’ penyakit TB melaui peningkatan efektifitas antibiotik telah digunakan di pasaran untuk mengurangi penderita TB di Indonesia. Senyawa-senyawa dalam ‘Herbal Hybrid’ ini banyak terdapat di dalam tanaman-tanaman lokal Indonesia, yang dapat meningkatkan nilai guna kearifan lokal, sehingga dapat mewujudkan Indonesia mandiri bahan baku obat. Obat tersebut dapat diproduksi dan dikomersialkan di masyarakat dengan harga yang murah sehingga dapat dijangkau masyarakat menengah ke bawah.

Metode Studi Pustaka

Studi pustaka yang dilakukan yaitu dengan cara mengumpulkan data literatur sebagai pendukung gagasan, dasar teori, referensi dan kajian gagasan. Sumber literatur ini berasal dari buku, artikel jurnal, laporan penelitian, dokumen review jurnal dan website. Data diklasifikasikan untuk menganalisis permasalahan da menyintesis gagasan.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

Prevalensi dan Bahaya Tuberkulosis

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit yang dapat menyerang paru-paru manusia yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberkulosis*. Penemuan penyebab penyakit TB telah diketahui sejak lama, tetapi penanganannya hanya dapat menurunkan beberapa persen kasus yang terjadi di seluruh dunia. Penyakit TB merupakan penyakit menular yang termasuk ke dalam 10 besar penyakit paling mematikan di dunia. Kasus kematian akibat TB resisten terhadap obat-obatan dan antibiotik (*Multi-Drug Resistant/*MDR-TB) terbanyak terdapat di wilayah Afrika dan Asia Tenggara, termasuk Indonesia sebesar 30-50% pada tahun 2015 (Gambar 1). Salah satu *Sustainable Development Goals* (SDGs) 2016-2035 yaitu membentuk strategi mengentaskan *High Burden Country* (HBC) termasuk Indonesia dari tuberkulosis (*World Health Organization*, 2016).

(*World Health Organization*, 2016)

Gambar 1. Persentase penderita Tuberkulosis yang disebabkan bakteri resisten obat dan antibiotik

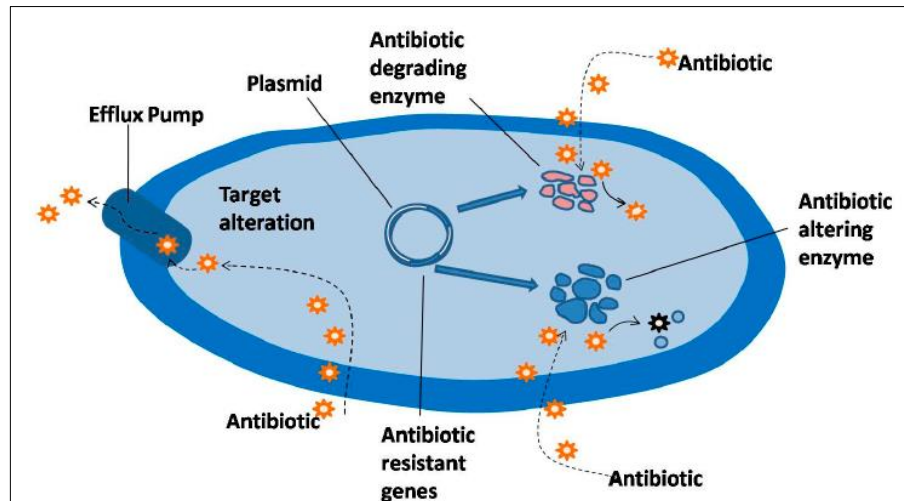
Penyakit TB ditandai dengan batuk yang tidak berhenti selama lebih dari tiga minggu, batuk berdarah, nyeri dada dan sesak napas, berkeringat di malam hari tanpa aktivitas berat, demam, kehilangan nafsu makan dan berat badan (*World Health Organization,* 2010). Tuberkulsosis menyebabkan dampak yang serius bagi kesehatan. Dampak penyakit ini di antaranya badan lemas, kurus, serta menimbulkan plak dan kerusakan paru-paru. Penanganan harus cepat dilakukan agar bakteri penyebab TB tidak berkembang semakin banyak. Fase-fase penyakit TB secara umum dibagi menjadi tiga, yaitu infeksi awal, reaktivasi TB dan aktivasi TB (Weebly. 2016).

Fase pertama, infeksi awal TB dimulai saat bakteri *Mycobacterium tuberkulosis* masuk dalam tubuh melalui organ pernapasan atau pencernaan dan berjalan menuju paru-paru. Makrofag yang merupakan bagian dari sistem imun mendegradasi bakteri tersebut. Akan tetapi, bakteri tersebut memiliki mekanisme yang menjaganya dari aktivitas makrofag. Jika sistem pertahanan tubuh lemah, maka sel bakteri akan tetap hidup dan memperbanyak diri di dalam makrofag. Hal tersebut menyeabkan sistem imun lain tidak dapat mengenali adanya patogen, sehingga *Mycobacterium tuberkulosis* menjadi bakteri yang tidak dikenali (laten). Fase kedua yaitu reaktivasi bakteri TB dengan mulai berkembang biak dan memiliki efek terhadap pernapasan, menyebabkan batuk yang sulit disembuhkan dengan obat batuk biasa. Fase ketiga yaitu aktivasi TB. TB laten menjadi TB aktif. Bakteri menyebar ke seluruh paru-paru dan keluar melalui pernapasan, dahak dan air liur. Hal tersebut memudahkan penularan bakteri ke substrat lain (Weebly. 2016).

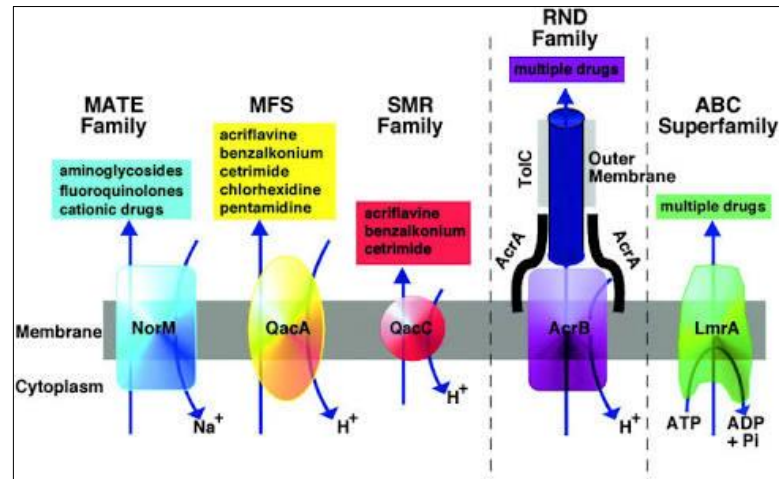
Tuberkulosis yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberkulosis* dapat diobati dengan antibiotik. Antibiotik dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri penyebab TB. Antibiotik yang telah dijual di pasaran menggunakan kemampuan toksisitas karbon monoksida untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Tetapi bakteri *Mycobacterium tuberkulosis* dapat bertahan terhadap antibiotik melalui mekanisme *efflux pump* atau channel membran bakteri yang dapat mengeluarkan antibiotik (Zacharia dan Shiloh, 2012).

Mekanisme Resistensi *Efflux Pump* Bakteri *Mycobacterium tuberkulosis* terhadap Antibiotik Komersial (Banyak dijual di Pasaran)

Penyakit tuberkulosis atau TB merupakan penyakit menular yang sulit disembuhkan. Tuberkulosis disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberkulosis* yang meiliki kemampuan resistensi terhadap obat atau antibiotik yang telah ada (*Multi Drug Resistant/*MDR-TB). Mekanisme *efflux pump* dilakukan oleh bakeri untuk mengeluarkan antibiotik. Mekanisme tersebut memerankan hal yang penting bagi patogenisitas bakteri, pertahanan diri dan fungsi ekologis. E*fflux pump* juga berperan penting dalam pertahanan diri terhadap sistem imun manusia yang meliputi fagosit dan neutrofil (Kalia dkk., 2012).

Efflux pump pada bakteri *Mycobacterium tuberkulosis* memiliki fungsi sebagai mekanisme untuk melawan zat-zat toksik lingkungan dan mendukung kehidupan intraselulernya (pembelahan sel dan proses biologis lainnya). Mekanisme tersebut dapat melindunginya dari efek antibiotik yang diberikan. Oleh karena itu, penyakiit TB yang ditimbulkan bakteri tersebut sulit disembuhkan. Antibiotik yang telah ada, seperti rifampisin memerlukan waktu lama dalam menghadapi bakteri, tetapi tingkat keberhasilannya masih sangat rendah, yaitu 50% (*World Health Organization*, 2016). Bakteri *Mycobacterium tuberkulosis* memiliki sistem *efflux pump* untuk mengikat dan mengeluarkan antibiotik. Rv1258c yaitu transporter sekunder bakteri *Mycobacterium tuberkulosis yang* merupakan yang menjadi fasilitator utama (*Major Facilitator Superfamily* (MFS)) *efflux pump* yang memiliki struktur yang berkaitan dengan MefA (membran yang memutar pompa MFS) penyebab resistensi bakteri terhadap antibiotik (Szumowski dkk., 2013).

(Chandra dkk., 2017)

Gambar 2. Mekanisme pengeluaran antibiotik melalui efflux pump oleh bakteri dari dalam tubuh ke lingkungan

Masuknya antibiotik ke dalam tubuh bakteri menginduksi gen-gen yang mengkode aktivitas *efflux pump*. *Efflux pump* bakteri merupakan protein transporter yang berada di membran plasma bakteri. Terdapat enam jenis *efflux pump* bakteri (Gambar 3), yaitu: *Small Multidrug Resistance* (SMR), *Major Facilitator Superfamily* (MFS), *Multidrug and Toxic Compound Extrusion* (MATE), *ATP (adenosine triphosphate)-Binding Cassette* (ABC), *Resistance Nodulation Division* (RND) dan *Proteobacterial Antimicrobial Compound Efflux* (PACE). *Efflux pump* merupakan protein transporter yang protektif karena dapat mengeluarkan dan menekan zat-zat berbahaya bagi bakteri, termasuk antibiotik dari dalam ke luar tubuh bakteri sebelum sampai pada target intraseluler bakteri. *Efflux pump* bekerja secara spesifik terhadap zat-zat tertentu (Spengler dkk., 2017).

(Piddock, 2006)

Gambar 3. Jenis-jenis *efflux pump* bakteri

Transporter yang terdapat pada bakteri *Mycobacterium tuberkulosis* adalah RND transporter yang bekerja dengan menggunakan *proton motif force* (PMF) dan *sodium motive force* sebagai sumber energi utama. RND transporter terletak pada membran dalam bakteri (AcrB dan MexB), bagian luar protein membran (TolC dan OprM), serta pada protein perifer adaptor (AcrA and MexA) yang menghubungkan membran luar dan dalam. Selain itu, bakteri *Mycobacterium tuberkulosis* memiliki MFS transporter yang juga menggunakan proton sebagai sumber energi utama. MFS transporter memiliki NorA, protein dengan 388 asam amino dengan 12 segmen transmembran yang mendukung resistensi terhadap obat-obatan dan antibiotik (Spengler dkk., 2017).

Major Facilitator Superfamily (MFS) pada *Mycobacterium tuberculosis* memiliki protein Rv1258c. protein tersebut merupakan protein tansporter yang terdapat pada bagian membran sitoplasma bakteri. Protein Rv1258c sangat peka terhadap zat-zat toksik, terasuk antibiotik yang akan ditarik keluar. Rv1258c yang merupakan salah satu protein *efflux* dengan gen yang mengkode resistensi tetracycline atau aminoglycoside (TAP-2)-*like efflux pump.* Gen tersebut melakukan peranan yang penting dalam resistensi terhadap beberapa jenis obat (*multi-drug resistant*) yang berasosiasi dengan level transkripsi (TAP-2)-*like efflux pump.* Asosiasi tersebut melindungi bakteri dari akumulasi obat dan antibiotik pada

sitosol. Tekanan oleh rifampisin menyebabkan overekspresi dari Rv1258c, sehingga bakteri menjadi resisten terhadap antibiotik tersebut (Sharma dkk., 2010).

Mekanisme *efflux pump* dapat diatasi dengan tiga strategi. Strategi pertama yaitu dengan penghambatan *binding* atau pengikatan antibiotik oleh pompa membran sitoplasma. Penghambatan yang dilakukan dengan menutup membran sitoplasma yang dapat menarik antibiotik. Membran sitoplasma yang telah ditutup atau dihalangi tidak dapat melakukan pengikatan terhadap antibiotik. Hal tersebut dapat meningkatkan kinerja antibiotik untuk mendegradasi intraseluler bakteri. Strategi kedua yaitu dengan interaksi antar komponen pompa. *Efflux pump* atau pompa yang digunakan oleh bakteri untuk mengeluarkan antibiotik memiliki beberapa komponen yang bekerja sama dalam mengaktivasi pompa. *Efflux pump* akan tertutup jika komponen-komponen penyusunnya dihalangi untuk melakukan interaksi. Strategi ketiga yang dapat dilakukan untuk mengurangi atau menghambat kerja *efflux pump* yaitu mengurangi energi pompa dan menghambat jaringan regulasi yang megontrol ekspresi komponen pompa. Komponen pada tiap-tiap jenis bakteri berbeda-beda. *Mycobacterium tuberkulosis* memiliki jenis *efflux pump Major Facilitator Superfamily* (MFS) dan *Resistance Nodulation Division* (RND). Komponen *efflux pump* MFS yaitu QacA yang berfungsi sebagai *channel* utama sebagai tempat pengeluaran antibiotik. Ion H^+ pada membran sel berperan dalam pembukaan *channel* protein tempat masuknya antiniotik. Jumlah ion tersebut dikurangi oleh bakteri sehingga *efflux pump* dapat diaktivasi untuk mengeluarkan antibiotik dari sitoplasma ke luar sel melalui membran. NorA juga terdapat dalam MFS ynng berperan dalam pengaktivan *efflux pump*, yaitu sebagai *proton motive force* yang memberikan energi bagi pompa. Oleh karena itu, penghambatan NorA dilakukan untuk menghambat aktivasi *efflux pump* sehingga antibiotik tidak dikeluarkan kembali. Sementara itu, *efflux pump* jenis RND meiliki protein Rv1258c yang terdapat pada membran sitoplasmik bakteri. *Efflux pump* RND memiliki *channel* AcrB sebagai pintu pengeluaran antibiotik. AcrB dan MexB merupakan transporter membran bagian dalam, sedangkan transporter membran luar yaitu TolC dan OprM. AcrA dan MexA merupakan membran periplasmik yang menghubungkan transporter luar dan dalam. Satu-kesatuan *efflux pump* tersebut disebut dengan AcrAB-TolC yang membentuk *channel* yang besar pada membran

sel bakteri. AcrB berfungsi mengurngi ion H^+ yang berperan dalam pemasukan antbiotik ke dalam sel. TolC merupakan saluran yang tempat pengeluaran antibiotik ke lingkungan. AcrA merupakan *membrane fusion protein* (MFP) yang menyangga *efflux pump* dari dalam membran bakteri (Spengler, 2017).

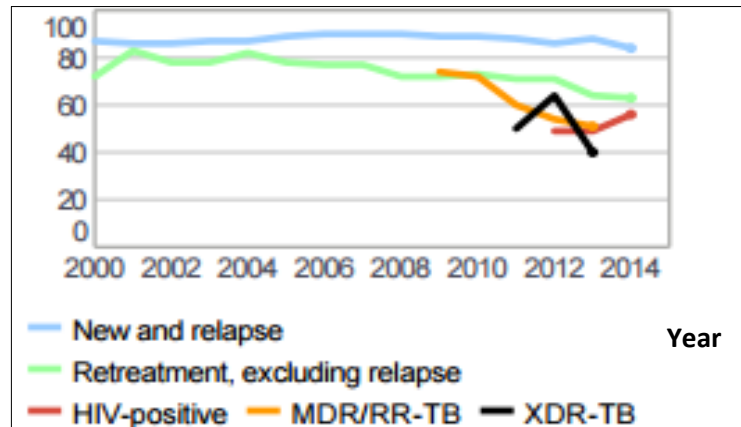
Prevensi dan Penanganan Tuberkulosis

Berbagai upaya pencegahan telah dilakukan oleh pemerintah, salah satunya melalui program *Directly Observed Treatment*, *Short-Course* (DOTS) berbasis masyarakat. Program tersebut bertujuan mengurangi keterlambatan diagnosis, meningkatkan dukungan kepada pasien yang sedang menjalani pengobatan dan melakukan pemerataan program kepada seluruh laisan masyarakat. Pemerintah telah meakukan manajemen pengembangan sumber daya manusia, sistem informasi manajemen, sistem penilaian kinerja, manajemen logistik di tingkat fasilitas pelayanan kesehatan, kabupaten/kota hingga pusat dalam strategi nasional pengendalian TB 2010-2014 (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2011). Namun hal tersebut masih belum dapat menurunkan jumlah kasus TB yang terjadi di Indonesia. Oleh karena itu, diperlukan terobosan obat penyakit dan penanganan TB yang lebih mutakhir (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2013).

Program DOTS yang telah diterapkan di Indonesia tergolong masih belum sukses dilaksanakan. Hal tersebut disebabkan kurangnya fasilitas yang mendukung, seperti alat pendeteksi TB sejak dini sehingga penanganan TB menjadi terlambat dan peyakit tersebut telah berkembang menjadi lebih akut. Selain itu, kelemahan program DOTS di Indonesia yaitu kurangnya ketersediaan obat TB di beberapa wilayah di Indonesia, terutama pedalaman. Distribusi obat TB masih belum merata. Ketersediaan obat TB masih belum optimal di beberapa wilayah di Indonesia karena akses distribusi obat yang sulit. Hal tersebut menunjukkan bahwa pengobatan TB masih belum terlaksana dengan optimal. Obat MDR-TB masih impor sehingga memiliki harga yang relatif mahal. Selain itu, proses pengeluaran obat dari bandara lama dan ketersediaan obat MDR-TB masih harus mendapat persetujuan dari *Green Light Committee* (GLC), sementara pennyakit TB semakin meluas jika tidak segera diobati (Hasra dkk., 2014).

Penanganan TB telah dilakukan, tetapi menurut *World Health Organization* (2010) tidak dapat menjamin 100% kesembuhan penderita TB di dunia. Pasien penderita *Multi-Drug Resistant* (MDR-TB) sulit dideteksi dan sebagian besar penderitanya berasal dari kalangan menengah ke bawah dengan penghasilan rendah. MDR-TB sulit disembuhkan dengan antibiotik yang telah banyak digunakan, seperti rifampisin dan isoniazid. Pengobatan dengan rifampisin selama dua bulan terhadap pasien MDR-TB mengalami kegagalan sebesar 50-94% (*World Health Organization*, 2010).

Pengobatan TB di Indonesia menurut *World Health Organization* (2016) mengalami penurunan sejak tahun 2009 hingga 2014 (Gambar 4). Keberhasilan pengobatan tergolong tinggi terhadap kasus baru yang segera ditangani dengan cepat setelah penderita diketahui positif mengalami TB. Pederita TB yang beru sembuh masih harus menjalani beberapa saat treatment untuk mengantisipasi kambuhnya penyakit tersebut. Penyakit TB yang kambuh dapat disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberkulosis* yang masih tersisa di dalam tubuh penderita mengalami dormansi yang menyebabkan bakteri tersebut tidak dikenali oleh antibodi, sehingga dapat berkembang biak kembali dan menyebabkan TB.

Pengobatan penyakit TB yang kambuh di Indonesia terus mengalami penurunan sejak tahun 2004 hingga 2014. Hal tersebut diduga terjadi karena keterlambatan treatment terhadap penyakit TB yang kambuh, tidak adanya treatment lanjutan sesaat setelah sembuh dan bakteri mengalami resistensi. Dugaan tersebut diperkuat dengan ditemukannya *Multi-Drug Resistant* (MDR-TB) pada tahun 2009 dan *Extensively-Drug Resistant* (XDR-TB) pada tahun 2010. Pengobatan terhadap MDR-TB terus mengalami penurunan hingga tahun 2014. Sementara itu, pengobatan terhadap XDR-TB mengalami penurunan sejak tahun 2012. Penurunan penobatan tersebut menunjukkan bahwa penyakit TB sulit disembuhkan. Pengobatan yang telah dilakukan menggunakan antibiotik yang telah ada dan diaplikasikan sejak lama dapat menyebabkan resistensi bakteri penyebab TB, oleh karena itu diperlukan kandidat bahan obat TB baru (*World Health Organization,* 2016).

(*World Health Organization*, 2016)

Gambar 4. Tingkat keberhasilan pengobatan TB di Indonesia

Pengobatan MDR-TB telah dilakukan dengan pemberian antibiotik verapamil. Verapamil diberikan kepada penderita TB yang tidak sembuh dengan antibiotik yang diberikan sebelumnya, seperti rifampisin dan isoniazid. Obat ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberkulosis* yang memiliki mekanisme *efflux pump* untuk mengeluarkan antibiotik. Verapamil berfungsi sebagai *calcium channel blocker* atau penghambat *channel* kalsium (Ca). Verapamil dapat merelaksasi pembuluh darah dan dapat mengurangi kinerja jantung yang berlebih. Obat ini dapat mendukung antibiotik yang telah digunakan untuk terapi TB (Szumowski dkk., 2013).

Verapamil dapat menghambat *channel* Ca yang tidak hanya terdapat pada bakteri. Sel-sel tubuh manusia, termasuk makrofag (bagian dari sistem imun) juga memiliki *channel* Ca, sehingga verapamil dalam dosis yang tidak tepat dapat menutup *channel* sel-sel lain dan menimbulkan efek samping. Efek samping yang ditimbulkan verapamil di antaranya pusing, penglihatan yang buram, detak jantung lemah, sulit bernapas, sakit kepala, pingsan, ruam kulit dan pembengkakan kaki. Efek samping tersebut menimulkan dampak yang serius bagi kesehatan. Aktivitas sehari-hari menjadi terganggu akibat efek samping verapamil. Oleh karena itu, anti-*efflix pump* bakteri penyebab TB herbal diperlukan untuk menggantikan kerja verapamil dalam meningkatkan efektivitas antibiotik TB (Moody, 2017).

BAB III
ANALISIS DAN SINTESIS

Mekanisme Capsaicin dan Piperin dalam Menghambat Mekanisme *Efflux Pump*

Capsaicin (8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide) adalah komponen yang ada di dalam buah cabai rawit yang menyebabkan rasa pedas. Capsaicin memiliki aktivitas farmakologi dan toksikologi. Capsaicin memliki mekanisme inhibisi terhadap P-glycoprotein yang merupakan bagian mekanisme NorA *efflux pump*. Capsaicin dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Helicobacter pylori* dan *Mycobacterium tuberculosis.* Capsaicin dapat berperan dalam 'Herbal Hybrid' TB sebagai penghambat *efflux pump.* Capsaicin mampu menghambat kerja protein transmembran yang sensitif terhadap antibiotik, yaitu NorA. Capsaicin dapat pula menghambat produksi *proton motive force* yang menjadi sumber energi *efflux pump Mycobacterium tuberculosis,* baik MFS maupun RND. (Kalia dkk., 2012).

Piperin merupakan senyawa aktif yang terdapat di dalam lada hitam dan cabai rawit. Kedua tanaman tersebut banyak terdapat di Indonesia. Hal tersebut memudahkan produksi ekstrak piperin seagai 'Herbal Hybrid' antituberkulosis yang aman, murah dan mudah didapat. Piperin dapat menghambat *efflux pump* bakteri *Mycobacterium tuberkulosis* pada Rv1258c. Rv1258c yaitu transporter sekunder bakteri *Mycobacterium tuberkulosis yang* merupakan fasilitator utama (*Major Facilitator Superfamily*/MFS) *efflux pumps* yang memiliki struktur yang berkaitan dengan MefA (membran yang memutar pompa MFS) penyebab resistensi bakteri terhadap antibiotik (Szumowski dkk., 2013).

Piperin memiliki struktur kimia trans-trans isomer of 1-piperoyl-piperidine yang diisolasi dari lada hitam memiliki kemampuan biologis untuk menghambat *efflux pump* NorA, seperti capsaicin. Oleh karena itu, sinergisitas antara keduanya diperlukan untuk membuat 'Herbal Hybrid' TB yang efektif. Selain itu, piperin juga mampu menghambat protein *efflux pump* yang lain pada *Mycobacterium*

tuberculosis yaitu Rv1258c, sehingga dapat meningkatkan efektivitas antiiotik dalam mendegradasi sel bakteri (Sharma dkk., 2010).

Metode yang dilakukan untuk mengetahui konsentrasi yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberkulosis* yaitu dengan mengkombinasikan capsaicin dengan piperin. Ekstraksi dilakukan pada buah cabai rawit, serta lada hitam menggunakan teknik kromatografi penukar ion. Kombinasi kedua eksrak tersebut diuji dengan cara diberikan kepada isolat *Mycobacterium tuberkulosis* NorA dan Rv1258c *overproducing* dan *wildtype* dalam cawan petri. *Paper disc* dicelupkan dalam ekstrak capsaicin dan piperin. *Paper disc* dimasukkan dalam isolat bakkteri dalam cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam. Zona hambat diukur dan menjadi parameter konsentrasi yang tepat untuk 'Herbal Hybrid'. Kalia dkk. (2012) menyatakan bahwa konsentrasi capsaicin sebanyak 25 mg/L dengan dikombinasikan dengan antibiotik sebanyak 2 mg/L dapat menghambat pertumbuhan dan mempercepat waktu degradasi bakteri hingga tiga kali lipat. Sementara itu, piperin 25 mg/L yang ditambahkan dalam dosis rifampisin memiliki konsentrasi hambat minimum (KHM) empat kali lipat lebih rendah daripada dosis rifampisin tanpa piperin. Hal tersebut menunjukkan bahwa piperin mampu meningkatkan efektivitas rifampisin sebesar empat kali lipat (Sharma dkk., 2010).

Potensi Filantin dan Terpenoid dalam Ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri*) sebagai *Immunomodulator* untuk Mengatasi Penyakit Tuberkulosis

Ekstrak daun meniran menurut Putri dkk. (2017) memiliki aktivitas atibakteri penyebab tuberkulosis, yaitu *Mycobacterium tuberkulosis.* Ekstrak daun meniran mengandung filantin dan terpenoid yang mampu meningkatkan efektivitas dan jumlah sel-sel fagosit di dalam tubuh, terutama paru-paru yang terinfeksi bakteri tersebbut. Bakteri penyebab tuberkulosis memiliki aktivitas asosiasi dengan sistem imun host, yaitu makrofag alveolus paru-paru dan sel dendritic (DCs). Selain itu, ekstrak daun meniran dapat meninkatkan proliferasi *Peripheral blood mononuclear cells* (PBMCs) sehingga dapat meningkatkan efektivitas fagositosis sel bakteri. *Peripheral blood mononuclear cells* (PBMCs) mengandung limfosit (sel-T, sel-B dan sel-NK), monosit dan granulosit (neutrofil, basofil, dan eosinofil).

Hal tersebut dapat meingkatkan kerja sistem imunitas penderita TB dan memudahkan sistem imun untuk mendegradasi bakeri *Mycobacterium tuberkulosis* (Putri dkk., 2017).

Metode yang dilakukan untuk membuat bahan 'Herbal Hybrid' filantin dan terpenoid dari ekstrak daun meniran yaitu ekstraksi yang dilakukan pada daun meniran dengan penggerusan. Hasil penggerusan atau homogenat daun meniran kemudian diisolasi menggunakan teknik kromatografi penukar ion (Putri dkk., 2017). Untuk membuat 'Herbal Hybrid', filantin dan terpenoid yang telah diisolasi dari daun meniran dicampurkan dengan capsaicin dan piperin yang diyakini dapat bersinergi dengan antibiotik untuk *treatment* TB.

Penggunaan 'Herbal Hybrid' Tuberkulosis (TB) untuk Menurunkan Jumlah Kasus Tuberkulosis dalam Rangka Mewujudkan Indonesia Bebas TB 2050

Capsaicin, Piperin, filantin dan terpenoid dicampurkan sebagai 'Herbal Hybrid' penyakit TB dapat digunakan untuk *treatment* penyakit TB di Indonesia dan mendukung program Indonesia bebas TB 2050. 'Herbal Hybrid' yang dikombinasikan dengan antibiotik yang telah dijual di pasaran, seperti rifampisin dan isoniazid, diimplementasikan dalam program kementerian kesehatan. Sesuai Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 67 (2016), penanggulangan penyakit TB di Indonesia dilakukan melalui beberapa tahapan:

a. Promosi kesehatan,
b. Survei TB,
c. Pengendalian faktor risiko,
d. Penemuan dan penanganan kasus TB,
e. Pemberian kekebalan; dan
f. Pemberian obat pencegahan.

'Herbal Hybrid' dalam hal ini berperan dalam tahap pemberian obat kesehatan. 'Herbal Hybrid' ini dapat diberikan sebelum atau bersama dengan pemberian antibiotik untuk meningkatkan efektivitas antibiotik yang telah dijual di pasaran dalam mengatasi bakteri penyebab TB. 'Herbal Hybrid' dapat pula mempercepat waktu penyembuhan TB tiga hingga empat kali lipat, sehingga waktu penyembuhan minimal yang semula enam bulan dapat dikurangi hingga menjadi

dua bulan. Hal tersebut akan mengurangi jumlah pasien TB di Indonesia. Pengembangan ‘Herbal Hybrid’ harus terus dilakukan untuk mengantisipasi terjadinya mutasi bakteri *Mycobacterium tuberkulosis.* Pengembangan dapat dilakukan melalui penelitian kemungkinan kandungan bioaktif capsaicin, piperin, filantin dan terpenoid pada jenis tanaman lain atau modifikasi struktur proteinnya sehingga bakteri tersebut dapat mengalami penghambatan pertumbuhan, bahkan bakteri yang telah mengalami mutasi akibat terlalu lama terpapar antiiotik yang sama. Konsep inovasi ‘Herbal Hybrid’ berbasis kearifan lokal diyakini mampu menghambat fungsi *efflux pump* yang terdapat pada struktur sel *Mycobacterium tuberkulosis* dan dapat meningkatkan efektivitas antibiotik TB komersial. Selain itu, diperlukan peran industri farmasi dalam negeri untuk mewujudkan hilirisasi inovasi ini dalam upaya tercapainya Indonesia bebas TB 2050.

Bahan-bahan ‘Herbal Hybrid’ TB ini banyak ditemukan di Indonesia. Pembuatannya juga relatif mudah, sehingga ‘Herbal Hybrid’ dapat dibuat oleh masyarakat pedalaman yang kurang terjangkau oleh distribusi obat MDR-TB. Masyarakat dapat dengan mudah dan cepat mendapatkan ‘Herbal Hybrid’ yang efektif untuk meningkatkan efektivitas antibiotik TB. Antibiotik yang bersinergi dengan ‘Herbal Hybrid’ dapat mempercepat penyembuhan penyakit TB, mengurangi jumlah penderita TB di Indonesia, sehingga dapat mewujudkan mewujudkan Indonesia bebas TB 2050. Bahan-bahan ‘Herbal Hybrid’ murah dan mudah dijangkau. Sumber daya yang melimpah tersebut dapat dimanfaatkan untuk produksi dan menjadikan Indonesia bebas TB dan mandiri bahan baku ‘Herbal Hybrid’ TB.

BAB IV
SIMPULAN DAN REKOMENDASI

Simpulan

‘Herbal Hybrid’ untuk mengatasi tuberkulosis (TB) ini mengandung capsaicin, piperin, filantin dan terpenoid yang terkandung dalam tanaman lokal Indonesia dapat dicampurkan dan digunakan sebagai pendamping antibiotik TB. Bahan-bahan obat tersebut masing-masing terkandung dalam cabai rawit, lada hitam dan meniran. ‘Herbal Hybrid’ memiliki dua mekanisme, yaitu penghambatan *efflux pump* dan peningkatan sistem imunitas tubuh pasien sehingga dapat menigkatkan efektivitas antibakteri dan penyembuhan TB tiga hingga empat kali lipat lebih cepat. Waktu penyembuhan minimal yang semula enam bulan dapat dikurangi hingga menjadi dua bulan. ‘Herbal Hybrid’ untuk mengatasi TB yang memanfaatkan kearifan lokal Indonesia dapat diproduksi dan dikomersialkan sebagai produk nasional dengan harga yang murah untuk menurunkan jumlah kasus TB dalam rangka mewujudkan program pemerintah Indonesia bebas TB 2050.

Rekomendasi

Penelitian lanjutan perlu dilakukan untuk mengetahui dosis efektif sesuai tingkatan infeksi dan efisien dengan waktu pengobatan yang lebih pendek dari terapi antibiotik saat ini. Inovasi ini dapat diaktualisasi dengan penelitian lanjutan mengenai pemanfaatan capsicin, piperin, filantin dan terpenoid dari tanaman lain untuk meningkatkan jumlah bahan baku ‘Herbal Hybrid’ TB. Lahan-lahan kosong di Indonesia sebaiknya ditanami cabai rawit, lada hitam dan meniran untuk mengkonservasi bahan ‘Herbal Hybrid’ TB. Teknik kultur suspensi sel dapat pula dikembangkan untuk perbanyakan produksi capsicin, piperin, filantin dan terpenoid sehingga dapat diproduksi skala industri tanpa mengeksplorasi dan menjaga kelestarian tanaman tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

Chandra, H., P. Bishnoi, A. Yadav, B. Patni, A. P. Mishra dan A. R. Nautiya. 2017. Antimicrobial Resistance and the Alternative Resources with Special Emphasis on Plant-Based Antimicrobials. *Plants* 6(16): 1-11.

Hasra, N., A. Saad dan F. Chandra. 2014. Penilaian Keberhasilan Program TB DOTS Berdasarkan Angka Keberhasilan Pengobatan dan Angka Konversi di RSID Arifin Achmad Provinsi Riau Periode Januari 2008 – Desember 2012. *JOM* 11(2): 1-14.

Kalia, N. P., P. Mahajan, R. Mehra, A. Nargotra, J. P. Sharma, S. Koul dan I. A. Khan. 2012. Capsaicin, a Novel Inhibitor of The NorA Efflux Pump, Reduces The Intracellular Invasion of *Staphylococcus aureus*. Jou*rnal of Antimicrobial Chemotherapy*:1-8.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2011. Strategi Nasional Pengendalian TB di Indonesia 2010-2014. *Terobosan Menuju Akses Universal*. Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan-Kementerian Kesehatan Republik Indonesia: 1-5.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2013. Strategi Nasional Pengendalian TB di Indonesia 2010-2014. *Temukan Obati Sampai Sembuh Tuberkulosis*. Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan-Kementerian Kesehatan Republik Indonesia: 2-3.

Moody, M. L. 2017. Verapamil, Oral Capsule. http://www.healthline.com/drugs/verapamil/oral-capsule. Diakses pada 24 April 2017 pukul 08:22 WIB.

Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 67. 2016. Penanggulangan Tuberkulosis. Menteri Kesehatan Republik Indonesia:2-4.

Piddock, L. J. V. 2006. Clinically Relevant Chromosomally Encoded Multidrug Resistance Efflux Pump in Bacteria. *Clinical Microbiology Reviews* 19(2): 382-402.

Putri, D. U., N. Rintiswati, M. H. N. E Soesatyo dan S. M. Haryana. 2017. Immune Modulation Properties of Herbal Plant Leaves: *Phyllanthus niruri* Aqueous

Extract on Immune Cells of Tuberkulosis Patient - In Vitro Study. *Natural Product Research*:1-6.

Sharma, S., M. Kumar, S. Sharma, A. Nargotra, S. Koul dan I. A. Khan. 2010. Piperine as an Inhibitor of Rv1258c, A Putative Multidrug Efflux Pump of *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Antimicrobial Chemotheraphy* 65: 1694–1701.

Spengler, G., A. Kincses, M. Gajdács dan L. Amaral. 2017. New Roads Leading to Old Destinations: Efflux Pumps as Targets to Reverse Multidrug Resistance in Bacteria. *Molecules* 22: 1-25.

Szumowski J. D., Kristin N. A., Paul H. E., dan Lalita R.. 2013. Antimicrobial Efflux Pumps and *Mycobacterium tuberkulosis* Drug Tolerance: Evolutionary Considerations. *Curr Top Microbiol Immunol*:1-25.

Wasnik, D.D. & P.M. Tumane. 2014. Antibacterial Activity of *Bambusa bambose* L. against Multiple Drug Resistant (MDR) Bacteria Isolated from Clinical Specimen. *Int. Journal of Pharmacy Sciences* 25(1): 215-218.

World Health Organization. 2010. **Treatment of tuberkulosis Guidelines**. WHO Library Cataloguing. Genewa: 60-69.

World Health Organization. 2016. **Global Tuberkulosis Report**. WHO Library Cataloguing. Genewa: 67-69.

Zacharia., V. M dan M. U. Shiloh. 2012. Effect of Carbon Monoxide on *Mycobacterium tuberkulosis* Pathogenesis. *Medical Gas Research* 2(30): 1-7.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Mekanisme Penyerangan Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dan Peningkatan Kerja Antibiotik